



TITLE:

頭蓋内腫瘍の放射線治療における Misonidazoleの放射線増感効果に 関する実験的ならびに臨床的研究

AUTHOR(S):

大塚, 信一

CITATION:

大塚, 信一. 頭蓋内腫瘍の放射線治療におけるMisonidazoleの放射線増感効果に関する実験的ならびに臨床的研究. 日本外科宝函 1982, 51(6): 892-906

ISSUE DATE:

1982-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/208987>

RIGHT:

頭蓋内腫瘍の放射線治療における Misonidazole の放射線増感効果に関する実験的ならびに臨床的研究

京都大学医学部脳神経外科学教室（指導：半田 肇教授）

大 塚 信 一

〔原稿受付：昭和57年 8 月30日〕

Radiosensitizing Effect of Misonidazole in Radiotherapy for Intracranial Tumors

SHIN-ICHI OTSUKA

Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

The radiosensitizing effect of misonidazole was studied in an experimental system of intracranially transplanted 203-glioma in C57BL mice. When 5×10^5 tumor cells were transplanted, all the control mice died within 3 weeks. When the intracranial tumor-bearing mice were treated 10 days after transplantation, the mean survival time of mice treated by single dose of radiation (1000 rad) with misonidazole (20 mg) was longer (about 6.5 weeks) than that of the mice treated by irradiation alone (about 4.5 weeks). In the terminal stage when the tumors were assumed to contain a large number of hypoxic tumor cells, intracranial tumors were removed immediately after irradiation with or without misonidazole treatment. Then, 5×10^5 viable tumor cells were retransplanted into other groups of mice. While all the mice retransplanted with tumor cells treated by irradiation alone died of tumor growth within 5 weeks, those retransplanted with tumor cells treated by irradiation and misonidazole remained free of tumor and survived for the observation period of 8 weeks. These results confirmed the radiosensitizing effect of misonidazole. As a clinical trial, misonidazole was given to 27 patients with brain tumors in an oral dose of 1.0 g/m^2 twice a week, 0.5 g/m^2 5 times a week or 2.0 g/m^2 once a week. The total dose was limited to 10 g/m^2 . Because the series of patients was not large enough and because the observation period was not long enough, it was difficult to distinguish the effect of misonidazole from that of conventional radiotherapy. There was no remarkable side effects due to misonidazole except for nausea and vomiting in 9 patients. However, it was thought logical to increase local concentration of misonidazole to enhance the radiosensitizing effect. In the next step, local

Key words: Intracranial tumor, Hypoxic cell, Radiosensitizer, Misonidazole, Pellet.

索引語：頭蓋内腫瘍，低酸素細胞，放射線増感剤，ミソニダゾール，ペレット。

Present address: Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School, 54 Kawahara-cho Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan.

administration of misonidazole was studied by the use of pellet made with silicone rubber or silicone tube. In in vitro examination, constant release of misonidazole into saline solution at 37°C was observed for about one month and the concentration of misonidazole was much higher (3.5 mg/ml) than the serum concentration (30 µg/ml) obtained by the oral administration. In in vivo examination, the release of misonidazole from the pellet placed in the subcutaneous tumor in rats was observed for 4 weeks although the concentration was not so high as had been expected from the data in in vitro experiments. With regard to neurotoxicity of misonidazole, when 0.6 mg of misonidazole was injected into subarachnoid space in rats or intracranially in mice, no convulsion and no other neurological findings were observed. When the pellet containing 0.5 g of misonidazole was placed intracranially or 20 mg of misonidazole were injected into the right frontal lobe in dogs, no convulsion and no other neurological findings were observed in a period of 7-37 days. As a clinical trial, three patients with brain tumors have been treated by the local application of misonidazole pellet into the tumor bed as an adjunct to radiotherapy. Although it is too early to make a conclusion, there have been no remarkable side effects and all of them have had an uneventful clinical course for 3-7 months. In order to get much stronger anti-tumor effect, the effect of misonidazole used with anti-cancer drugs or hyperthermia should be studied, and new radiosensitizers which have more potent radiosensitizing effect and less side effects should be developed.

I. は じ め に

一般に動物の腫瘍には約15~20%の hypoxic cells が含まれているといわれており²⁴⁾, ヒトの腫瘍においても同程度の割合で hypoxic cells が含まれていると推定されている. hypoxic cells は oxic cells に比較すると約3倍の放射線抵抗性を示し³⁾, hypoxic cells の存在が悪性腫瘍の放射線治療において, 腫瘍根治を妨げ再発の原因の1つとなっていると考えられている. これらの hypoxic cells の放射線治療効果を高めるため, 種々の試みがなされてきたが^{10, 16, 28, 35)}, 放射線増感剤の併用もそのうちの1つである. 1963年 Adams ら²⁾が hypoxic cells の放射線感受性は, 増感剤の電子親和性に関係していることを示唆して以来, 種々の electron affinic compounds の放射線増感作用が研究されてきたが^{4, 11, 13)}, その中で比較的毒性が弱く, 代謝を受けにくい nitroimidazole 系の misonidazole⁵⁾ が注目されている. すでに in vitro^{7, 29)} および in vivo^{15, 31)} の実験で, その放射線増感効果が報告されているが, 本研究では, 脳腫瘍の放射線治療における misonidazole の放射線増感効果を検討するため, まずマウスの頭蓋内移植腫瘍モデルを用いて, マウスの頭蓋内腫瘍に対

する misonidazole の放射線増感効果を検討し, 次に脳腫瘍患者の放射線治療に際し, 経口投与にて臨床応用を試みた. 現在種々の腫瘍に対して臨床応用が試みられているが¹⁷⁾, 副作用として悪心, 嘔吐などの消化器症状が存在するため¹⁾, 経口投与では腫瘍局所の濃度を上昇させることが困難である. この点に関し, misonidazole の腫瘍局所の濃度をできるだけ上昇させるため, silicone rubber, silicone tube より薬剤が持続的に放出される^{18, 25, 29)} ことを利用して misonidazole の pellet を作製し, in vitro, in vivo での misonidazole の放出実験に基づいて, 脳腫瘍患者の腫瘍摘出腔内に misonidazole pellet を留置し, 放射線治療を行ない, misonidazole の腫瘍局所投与についても検討した.

II. マウス頭蓋内移植腫瘍に対する misonidazole の放射線増感 効果に関する実験

1. 材料と方法

(1) マウスおよび腫瘍

マウスは C57BL 4 週令雄を使用した.

腫瘍は, 群馬大学病理学教室石田陽一教授より供与された 203-glioma を用いた. 203-glioma は, C57BL

マウスの脳内に 20-methylcholanthrene を注入して誘発した腫瘍で、現在本教室にて同系マウスの皮下に移植継代している。

(2) 担頭蓋内腫瘍マウスの作製

C57BLマウスの皮下に移植継代している203-gliomaを、無菌的に摘出、細切し、0.1%トリプシン、0.01% EDTA 処理により細胞浮遊液とし、Hamilton micro-injector を用いて、マウスの右前頭部に経皮的に注入、移植した。Fig. 1 の如く、移植する腫瘍細胞の数によって、腫瘍の生着率、腫瘍を移植したマウスの生存期間が異なるが、本実験では、移植した腫瘍が100%生着し、腫瘍移植後第3週目にすべてのマウスが腫瘍死する 5×10^5 個の細胞数を用いた。

(3) 担頭蓋内腫瘍マウスに対する放射線照射法と misonidazole の投与法

放射線照射は、 ^{60}Co 遠隔照射装置 (RT-2000 島津製作所製) を用いて、マウスを無麻酔下で特製のプラスチック固定器に固定し、頭部以外は鉛板で遮蔽し、全脳照射を行なった。

misonidazole (日本ロシュ株式会社より供与された) は、 ^{60}Co 照射の30分から1時間前に、マウス1匹当たり 20 mg (約 1 g/kg) を腹腔内投与した。

misonidazole の放射線増感効果は、分割照射よりも1回照射で強く認められており²⁰⁾、本実験では、腫瘍移植後3つの異なった時期に、マウスの全脳に ^{60}Co 1回照射を行なった。

予備実験で、マウスの全脳1回照射では、2000 rad 以上照射すると、マウスは口腔粘膜の damage により、照射後1週間以内に全例死亡すること、また 1500 rad

では、腫瘍増殖抑制効果はあるが、全身状態への影響として体重減少が著明であることを確認し、体重減少が著明でなく、腫瘍増殖抑制効果の認められる 1000 rad を中心に照射を行なった。

まず第1に腫瘍移植後6日目のマウスに ^{60}Co 照射を行ない、misonidazole を投与した群と投与しない群とで、マウスの生存期間を比較検討した。第2に、腫瘍移植後10日目のマウスに ^{60}Co 照射を行ない、misonidazole を投与した群と投与しない群とで、マウスの生存期間を比較検討した。第3に腫瘍移植後第3週目にはいり terminal stage にあるマウスでは、hypoxic cells の占める割合が相対的に多いと考えられるが、 ^{60}Co 照射、misonidazole の投与の如何にかかわらずもなく死亡し、misonidazole の放射線増感効果をマウスの生存期間の比較で判定するのは不可能であるため、この時期のマウスの全脳に ^{60}Co 照射を行ない、misonidazole を投与した場合、投与しない場合の各々につき、 ^{60}Co 照射直後にマウスの頭蓋内腫瘍を摘出し、0.1%トリプシン、0.01% EDTA 処理により細胞浮遊液を作製し、新たに正常マウスの頭蓋内に移植して、移植した腫瘍の生着率、および腫瘍を移植したマウスの生存期間を比較することによって misonidazole の放射線増感効果について検討した。

なお、腫瘍移植後10日目に ^{60}Co 照射を行なったマウスにつき、マウスの全脳照射、および misonidazole の腹腔内投与による全身状態への影響をみるため、マウスの体重の経時的変化を測定し、また ^{60}Co 照射、misonidazole 投与による頭蓋内腫瘍の組織変化についても検討した。

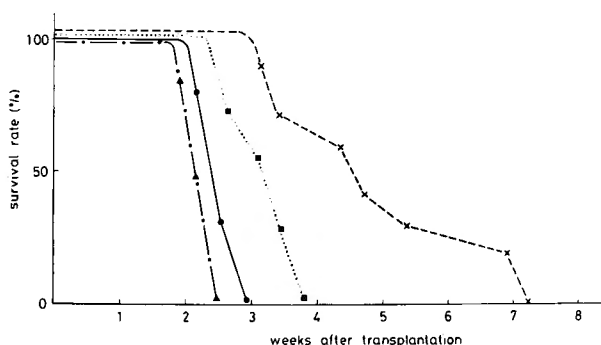


Fig. 1. Survival rates of C57BL mice with intracranially transplanted 203-glioma in relation to the number of tumor cells transplanted.

▲—●—▲ 1×10^6 , ●—●—● 5×10^5 , ■—■—■ 2.5×10^5 , ×—×—× 1×10^5
Each group consisted of 12 mice.
A dose of 5×10^5 tumor cells was used in all the following experiments.

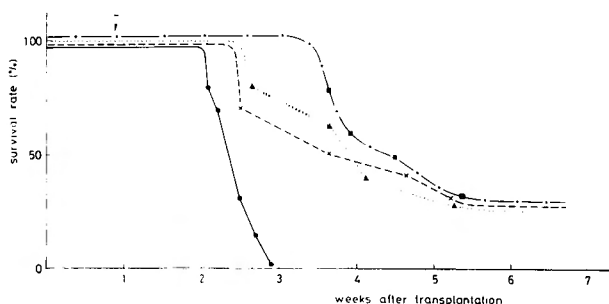


Fig. 2. Radiosensitizing effect of misonidazole on intracranially transplanted tumors 6 days after transplantation.

●—● non-treated control mice
 ×—× mice treated with irradiation (500 rad) and misonidazole (20 mg)
 ▲····· mice treated with irradiation (1000 rad) alone
 ■- - ■ mice treated with irradiation (1000 rad) and misonidazole (20 mg)
 Each group consisted of 10 mice.

Effect of misonidazole was minimal and not statistically significant when given 6 days after transplantation.

2. 結果

腫瘍移植後6日目に、misonidazole 投与、 ^{60}Co 照射を行なった場合は、Fig. 2 の如く、misonidazole 投与後 1000 rad 照射したマウスの死亡開始がわずかに遅延するという結果が得られたが、はっきりとした効果は認められなかった。

次に腫瘍移植後10日目に、misonidazole 投与、 ^{60}Co 照射を行なった場合は、Fig. 3 の如く、misonidazole 投与後 1000 rad 照射した群は、misonidazole を投与

しないで 1000 rad 照射した群に比較し、腫瘍移植後第5週前半まで、統計的に有意な差をもって ($p < 0.05$) 延命効果が認められ、Fig. 4 の如く、1500 rad 照射した群とほぼ同じ延命効果が認められた。

次に腫瘍移植後第3週目にはいり、terminal stageにあるマウスの whole brain に ^{60}Co 照射を行ない、腫瘍を摘出し、新たに正常マウスの頭蓋内へ移植した場合は、Fig. 5 の如く、control として misonidazole 投与も、 ^{60}Co 照射もしていないマウスの頭蓋内腫瘍

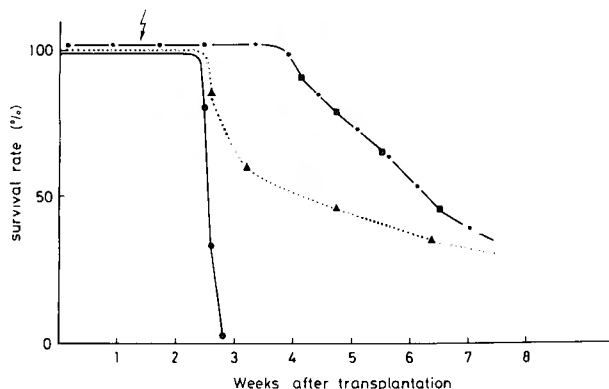


Fig. 3. Radiosensitizing effect of misonidazole on intracranially transplanted tumors 10 days after transplantation.

●—● non-treated control mice
 ▲····· mice treated with irradiation (1000 rad alone)
 ■- - ■ mice treated with irradiation (1000 rad) and misonidazole (20 mg)
 Each group consisted of 10 mice.

Effect of misonidazole when given 10 days after transplantation was statistically significant ($p < 0.05$) by 5 weeks after transplantation.

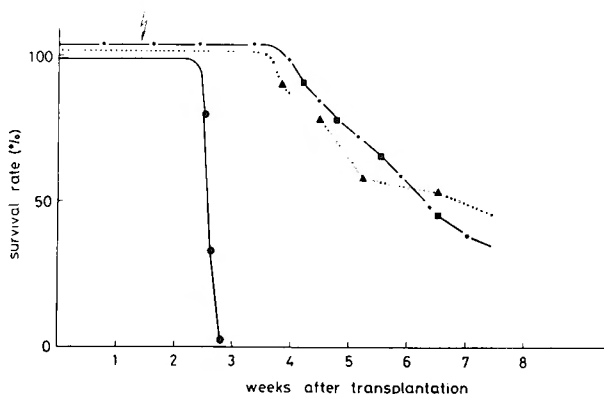


Fig. 4. Radiosensitizing effect of misonidazole in comparison with sole effect of irradiation on intracranially transplanted tumors.

●—● non-treated control mice

■—■ mice treated with irradiation (1000 rad) and misonidazole (20 mg)

▲—▲ mice treated with irradiation (1500 rad) alone

Irradiation and misonidazole were administered 10 days after transplantation.

Each group consisted of 10 mice.

Effect of irradiation (1000 rad) with misonidazole (20 mg) was comparable to the effect of a larger dose of irradiation (1500 rad).

5×10^5 個を移植したマウスは、移植後第3週目に全例死亡し、腫瘍の生着率は100%であった。 ^{60}Co 1000 rad 照射を行なった後、摘出した腫瘍を移植したマウスは、移植後第4週後半から第5週前半にかけて全例死亡し、腫瘍の生着率は100%であったが、control のマウスに比較して生存期間の延長が認められた。misonidazole 投与後、 ^{60}Co 1000 rad 照射を行なった後、摘出した腫瘍を移植したマウスは、腫瘍は生着せず、

全例8週間以上生存した。同実験で ^{60}Co 3000 rad および 5000 rad 照射を行なったが、misonidazole を投与した場合、投与しない場合、いずれの場合も、 ^{60}Co 照射後摘出した腫瘍を移植したマウスは全例生存し、腫瘍の増殖は認められなかった。3000 rad 以上の照射では、腫瘍細胞は完全に死滅したものと考えられる。

次に腫瘍移植後10日目に misonidazole 投与、 ^{60}Co 照射を行なったマウスの体重変化は、Fig. 6 の如く、

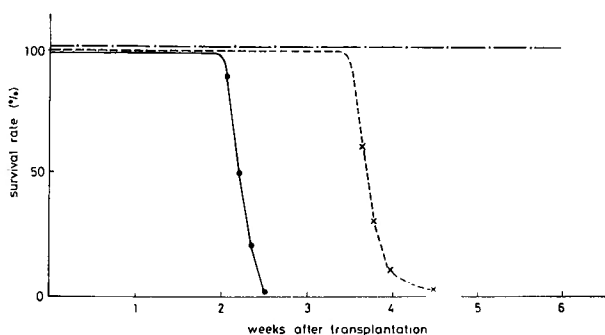


Fig. 5. Radiosensitizing effect of misonidazole on retransplantability and growth potential of intracranial tumors irradiated in the terminal stage. (in vivo assay)

●—● mice transplanted non-treated tumor cells

×—× mice transplanted tumor cells after prior irradiation (1000 rad) alone

—○— mice transplanted tumor cells after prior irradiation (1000 rad) with misonidazole (20 mg)

Each group consisted of 10 mice.

Transplantability and growth potential were markedly suppressed by prior irradiation (1000 rad) with misonidazole (20 mg).

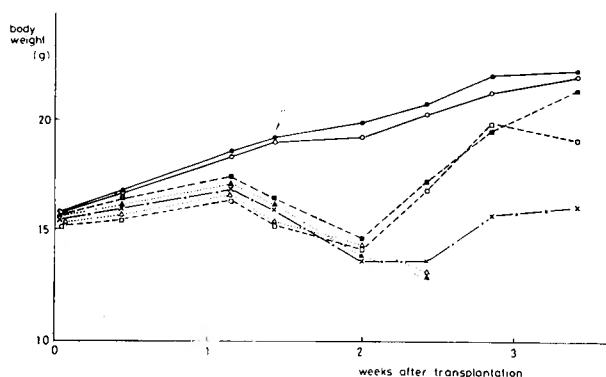


Fig. 6. Changes of body weight of mice treated with irradiation and/or misonidazole.
 ●—● mice treated with intracranial injection of saline (10 μ l) at the beginning of experiment instead of tumor cells
 ○—○ mice treated with intracranial injection of saline (10 μ l) at the beginning of experiment instead of tumor cells and with misonidazole (20 mg) 10 days later
 ▲—▲ intracranial tumor bearing mice without treatment
 △—△ intracranial tumor bearing mice treated with misonidazole (20 mg)
 ■—■ intracranial tumor bearing mice treated with irradiation (1000 rad) and misonidazole (20 mg)
 □—□ intracranial tumor bearing mice treated with irradiation (1000 rad)
 ×—× intracranial tumor bearing mice treated with irradiation (1500 rad)
 Irradiation and/or misonidazole were administered 10 days after transplantation. Each group consisted of 10 mice.

腫瘍を移植しないで、misonidazole のみを投与したマウスは、体重減少は認められず、頭蓋内に生理食塩水 10 μ l を注入した control のマウスとほぼ同様に増加し、misonidazole 20 mg 腹腔内 1 回投与の影響はほとんどないと考えられる。腫瘍移植後 10 日目に ^{60}Co 1000 rad 照射したマウスは、移植後 14 日目までは体重は減少するが、その後急速に 20 日頃まで増加し回復傾向を示す。しかし control のマウスの体重までは回復せず、misonidazole を投与した群では、第 4 週前半まで平均体重はやや増加がみられるがその後減少し、misonidazole を投与していない群では、第 4 週にはいと減少する。1500 rad 照射したマウスでは、やはり 14 日目頃まで減少し、その後増加するが、1000 rad 照射にくらべ回復は遅く、しかも増加の程度は悪く、第 4 週後半からは平均体重は減少する。1000 rad 照射に比較すると 1500 rad 照射はマウスの全身状態におよぼす影響は大きいと考えられる。

^{60}Co 照射を行なったマウスの頭蓋内腫瘍の組織変化であるが、 ^{60}Co 1000 rad および 1500 rad いずれの場合も、腫瘍は cellularity が低下し、karyorrhexis を伴う necrosis が認められた。necrosis の部分は次第に消失し、空洞化する傾向が認められた。これらの所見

は misonidazole を投与した場合、しない場合いずれの場合も同様であり、misonidazole 投与によると思われる特異的な組織変化は存在しなかった。

III. 脳腫瘍患者の放射線治療における misonidazole 併用の試み

脳腫瘍患者 27 例に対し、misonidazole を放射線治療に併用した (Table 1). 放射線照射は、 ^{60}Co または Lineac で行なった。第 1 例から第 23 例までの 23 例は、放射線治療は従来どおり、1 回 150~200 rad で週 5 回、全照射量 4400~6400 rad を行なった。第 3 例、第 16 例、第 17 例の 3 例は、放射線照射による副作用のため治療を中止した。misonidazole は、原則として放射線照射の 4 時間から 6 時間前²¹⁾ に経口投与で、体表面積 1 m^2 当り 1 g で、週 2 回、計 10 回、または体表面積 1 m^2 当り 0.5 g で、週 5 回、計 20 回の予定で行なった。

第 24 例から第 27 例までの 4 例は、misonidazole 投与期間中は 1 回 120 rad、週 4 回照射と、週 1 回 400 rad 照射する日をもうけ、この時に misonidazole を体表面積 1 m^2 当り 2 g を投与した。

misonidazole の副作用として、悪心、嘔吐などの消

Table 1.

Case No.	Age	Sex	Histology	Total dose of irradiation (rad)	Single dose of misonidazole (g)	Total dose of misonidazole (g)	Side effects of misonidazole	Outcome (Interval after diagnosis) (months)
1	46	M	glioblastoma	6,000	0.8	12		died (7)
2	34	M	astrocytoma	6,000	1.5	6	nausea	died (13)
3	29	F	oligodendroglioma	2,800	0.3	1.5		alive (37)
4	54	M	astrocytoma	6,000	1.6	11.2		died (12)
5	70	M	glioblastoma	6,000	1.5	15		died (2)
6	47	F	metastasis	5,000	1.4	14		died (22)
7	9	F	astrocytoma	5,000	1.2	10.8		alive (33)
8	56	F	metastasis	5,000	1.4	14	nausea, vomiting	died (3)
9	15	F	ependymoma	5,500	1.3	11.7		died (21)
10	44	M	astrocytoma	6,000	1.5	15		alive (31)
11	28	F	astrocytoma	5,000	1.6	16		alive (30)
12	10	F	glioblastoma	6,000	0.5	7.5		alive (28)
13	32	F	metastasis (adenocarcinoma)	4,400	1.5	12	nausea, vomiting	died (11)
14	39	F	astrocytoma	5,500	0.7	8.4		alive (40)
15	64	M	astrocytoma	6,000	1.5	13.5		died (8)
16	66	M	malignant lymphoma	2,410	1.5	12		died (7)
17	53	F	glioblastoma	950	1.7	5.1	nausea	died (8)
18	8	F	pontine glioma	6,000	0.5	7.5		died (4)
19	44	M	glioblastoma	6,400	0.7	10.4		died (11)
20	23	F	glioblastoma	6,000	1.44	14.4	nausea, vomiting	alive (27)
21	47	F	oligodendroglioma	6,000	0.8	10.4		alive (26)
22	34	M	astrocytoma	6,000	1.1	5.5		alive (17)
23	52	M	glioblastoma	6,000	0.8	16		died (8)
24	39	M	glioblastoma	6,000	3.3	13.2	nausea	died (17)
25	18	F	glioblastoma	5,250	3.0	9	nausea	died (3)
26	8	F	pontine glioma	5,000	2.0	10	nausea, vomiting	died (6)
27	38	M	astrocytoma	5,900	2.0	10	nausea, vomiting	alive (21)

化器症状をきたした症例が、27例中9例 (33.3%) 認められ、このうち第2例と第22例は投与を中止した。消化器症状はかなり個人差があるが、これらの投与例からみると、1回投与量 1.7 g 以上では出現するようである。peripheral neuropathy など他の副作用は認められなかった。

放射線治療の CT 上の効果は、complete remission 2例、partial remission 8例で、放射線照射による副作用のため予定の照射量を照射できなかった3例を除くと、response rate は41.7%であった。

misonidazole の放射線増感効果、従来の放射線治療に対する上乗せ効果の判定は現地点では困難であり、今後さらに症例を重ね、腫瘍の部位、大きさ、他の治

療法など条件のほぼ同じ症例における比較検討が必要と考えられる。

IV. misonidazole の局所投与に関する in vitro および in vivo の実験

1. silastic medical-grade elastomer を用いて 作製した misonidazole pellet の in vitro における放出実験

(1) 材料と方法

silastic medical-grade elastomer (Dow Corning K.K.) 2g に、misonidazole 純末 1g を混合し、misonidazole pellet を作製した (Fig. 7A)。この pellet を生理食塩水 2 ml のはいた試験管内に入れ、37°C に静置した。

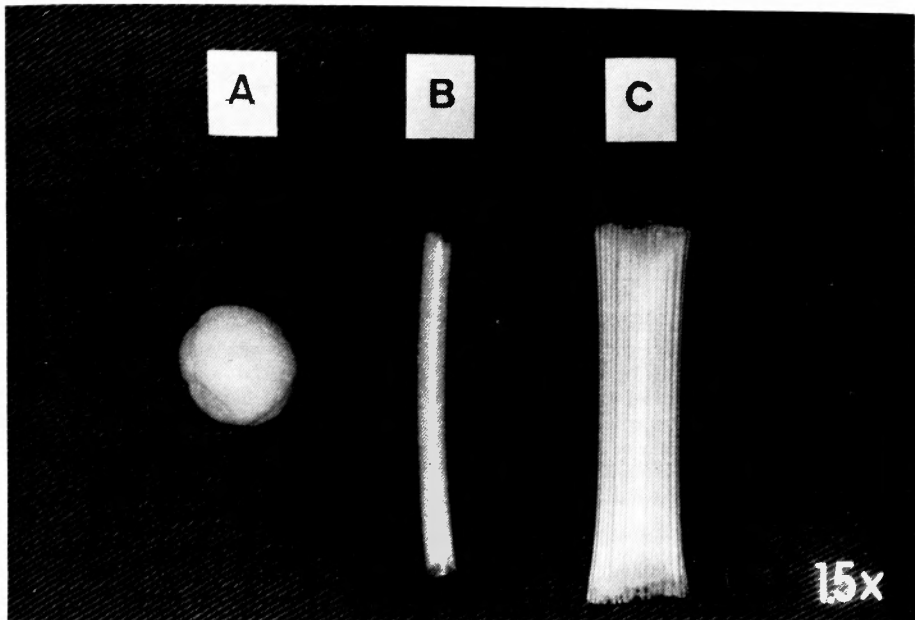


Fig. 7. A. misonidazole pellet made with silastic medical-grade elastomer (Dow Corning)
 B. misonidazole pellet made with ϕ con ss No. 4 silicone tube (Fuji system)
 C. misonidazole pellet made with A. No. 10 silicone tube (Dow Corning)

24時間ごとに pellet を試験管から取り出し、生理食塩水で洗浄後、新しい生理食塩水のはいった試験管内に入れ、24時間に、37°C で、生理食塩水中に放出される misonidazole の濃度を、1週間にわたり測定した。

次に、外液の misonidazole の濃度差による pellet からの放出量への影響を検討するため、同じ misonidazole pellet を用いて、1週間ごとに新しい生理食塩水の中に入れ替えて、1週間に 37°C で生理食塩水中に放出される misonidazole の濃度を、4週間にわたり測定した。

本実験および以後の実験では、検体はすべて濃度測定時まで -20°C に保存し、misonidazole の検体中の濃度測定は、日本ロシュの協力で、高速液体クロマトグラフィーにより行なった。実験は duplicate で行ない、2検体の濃度の平均値を図に表示した。

(2) 結果

37°C における生理食塩水中への misonidazole の pellet からの放出濃度は、pellet を24時間ごとに新しい生理食塩水に入れ替えると、Fig. 8 に示したように、2日目までは pellet の表面に露出した misonidazole の影響のためか、放出量が多いが、3日目からほぼ安定し、1週間目まで 6~8 mg/day の放出量が認められた。

次に、pellet を1週間ごとに新しい生理食塩水に入れ替えると、Fig. 9 に示したように、1週間目には約 20 mg/week、以後4週間目まで約 15 mg/week のほぼ安定した放出濃度が認められた。

2. silicone tube を用いて作製した misonidazole pellet の in vitro における放出実験

(1) 材料と方法

ϕ con tube ss. No. 4 (富士システム K.K.)に、misonidazole 純末 0.5 g を入れ、tube の両端を medical adhesive silicone type A (Dow Corning K.K.) でふさぎ、misonidazole pellet を作製した (Fig. 7B)。この pellet を生理食塩水 2 ml のはいった試験管内に入れ、37°C に静置した。3日ごとに pellet を試験管から取り出し、生理食塩水で洗浄後、新しい生理食塩水のはいった試験管内に入れ、3日間に、37°C で、生理食塩水に放出される misonidazole の濃度を、30日間にわたり測定した。

次に、A. No. 10 silicone tube (Dow Corning K.K.)に、misonidazole 純末 2 g を入れ、tube の両端を medical adhesive silicone type A でふさぎ、misonidazole pellet を作製した (Fig. 7C)。この pellet を生理食塩水 10 ml のはいった試験管内に入れ、37°C に静置した。まず、1週間ごとに pellet を試験管から取り出し、生

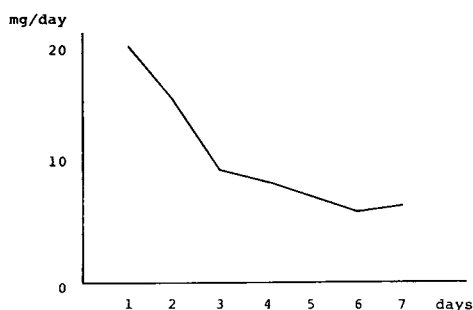


Fig. 8. Release of misonidazole from the pellet made with silastic medical-grade elastomer in vitro. When the pellet containing 1 g of misonidazole was placed in 2.0 ml of normal saline every 24 hours, it released a larger dosis of misonidazole into the saline at 37°C for first 2 days, but it released 6-8 mg/day of misonidazole constantly after the 3rd day.

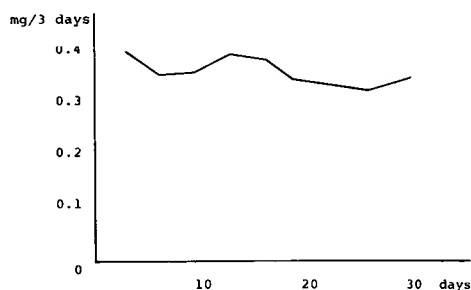


Fig. 10. Release of misonidazole from the pellet made with φcon ss No. 4 silicone tube in vitro. When the pellet containing 0.5 g of misonidazole was placed in 2.0 ml of normal saline every 3 days, it released 330-400 μg/3 days of misonidazole into the saline at 37°C for 30 days.

理食塩水で洗浄後、新しい生理食塩水のはいった試験管内に入れ、1週間に、37°Cで、生理食塩水中に放出される misonidazole の濃度を、4週間にわたり測定した。次に同じ pellet を 37°C で生理食塩水中に留置したまま、新しい生理食塩水に入れ替えないで、1週間ごとに、生理食塩水中に放出される misonidazole の濃度を測定した。

(2) 結果

φcon tube ss. No. 4 を用いて作製した misonidazole pellet からの、37°C における生理食塩水中への misonidazole の放出濃度は、Fig. 10 に示したように、330 ~ 400 μg/3 days のほぼ安定した放出濃度が、30日間 にわたり認められた。

A. No. 10 silicone tube を用いて作製した misonida-

zole pellet からの、37°C における生理食塩水中への misonidazole の放出濃度は、pellet を1週間ごとに新しい生理食塩水に入れ替えると、Fig. 11 に示したように、2.7~3.3 mg/week のほぼ安定した放出濃度が、4週間にわたり認められた。

次に、同じ pellet を、37°C で、生理食塩水中に留置したまま、新しい生理食塩水に入れ替えない場合は、Fig. 12 に示したように、1週間目の 3.2 mg から、4週間目の 11.0 mg まで、漸増する放出濃度が認められた。

3. silastic medical-grade elastomer を用いて作製した misonidazole pellet の in vivo における放出濃度測定の実験

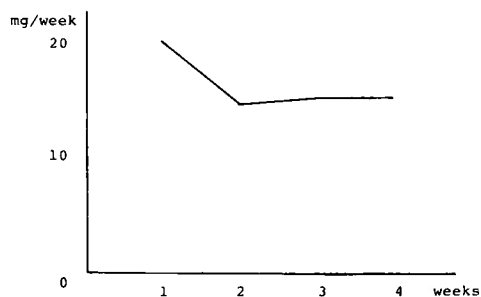


Fig. 9. Release of misonidazole from the pellet made with silastic medical-grade elastomer in vitro. When the pellet containing 1 g of misonidazole was placed in 2.0 ml of normal saline every week, it released 15-20 mg/week of misonidazole into the saline at 37°C for 4 weeks.

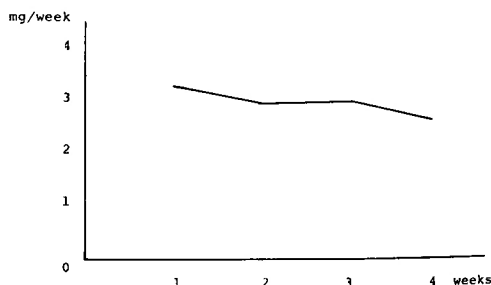


Fig. 11. Release of misonidazole from the pellet made with A. No. 10 silicone tube in vitro. When the pellet containing 2 g of misonidazole was placed in 10 ml of normal saline every week, it released 2.7-3.3 mg/week of misonidazole into the saline at 37°C for 4 weeks.

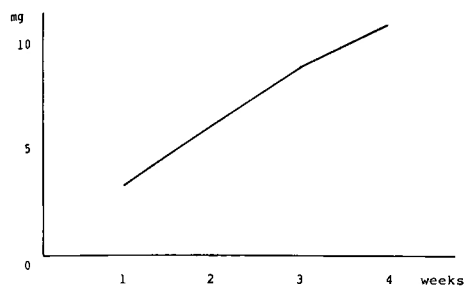


Fig. 12. Release of misonidazole from the pellet made with A. No. 10 silicone tube in vitro. When the pellet containing 2 g of misonidazole was placed in 10 ml of normal saline, 3.2 mg of misonidazole was detected after a week and then the concentration of misonidazole in the saline gradually increased and 4 weeks later 11.0 mg of misonidazole was detected.

(1) 材料と方法

misonidazole pellet は, silastic medical-grade elastomer 0.5 g に, misonidazole 純末 0.25 g を混合して作製したものを用いた。

使用したラットは, Wistar Fibiger rat 7 週令雄である。

使用した腫瘍は, Wistar Fibiger rat に ethylnitrosourea を用いて誘発した neurinoma である T₁ である。

ラットの背部皮下に, T₁ 細胞を 1×10^6 個移植し, 小豆大ほどの腫瘍を触知ようになる移植後 7 日目に, エーテル麻酔下で, 腫瘍に接する皮膚を切開し, 腫瘍を覆うように misonidazole pellet を皮下に留置した。pellet 留置後, 1 週間ごとに腫瘍を摘出し, misonidazole の腫瘍組織内濃度を測定した。同時に, 心臓穿刺により採血し, 血清中の misonidazole の濃度, および肝, 腎を摘出しその組織内濃度を測定した。

(2) 結果

Table 2 に示したように, misonidazole の腫瘍組織内濃度は, 腫瘍移植後 3 週間は皮膚に潰瘍を形成し, pellet が剝離したため濃度測定ができなかったが, 平均 18.5 $\mu\text{g/g}$ で, 4 週目でも 20.8 $\mu\text{g/g}$ の組織内濃度が認められた。また 1 週間目と 2 週間目に cyst を形成してきた腫瘍の cyst 液内にも misonidazole が認められた。同時に測定した血清中には, 4 週間目までいずれの時期も, misonidazole は 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 以下で検出不能であった。また肝, 腎内濃度は, 検出不能であるか, 極微量認められるのみであった。

Table 2.

Tissues		Weeks	1	2	3	4
Tumor	($\mu\text{g/g}$)		24.3	10.4	—	20.8
Cyst Fluid	($\mu\text{g/ml}$)		25.8	26.1	—	—
Serum	($\mu\text{g/ml}$)		<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
Liver	($\mu\text{g/g}$)		<1.0	<1.0	1.2	<1.0
Kidney	($\mu\text{g/g}$)		1.1	<1.0	1.4	1.7

4. misonidazole の毒性の検討

(1) 材料と方法

(a) misonidazole のマウスの頭蓋内投与

8 週令の C57BL 雌マウスの右前頭部に, ネンブター麻酔下で, Hamilton microinjector を用いて経皮的に, misonidazole 0.15 mg, 0.3 mg, 0.45 mg, 0.6 mg を注入し経過を観察した。各群 5 匹ずつのマウスを使用し, 週 2 回体重測定を行ない, 注入後 1 カ月目に屠殺して, misonidazole 注入部の組織変化を検討した。

(b) misonidazole のラットの髄腔内投与

8 週令の Wistar Fibiger 雌ラットの大槽内に, エーテル麻酔下で, Terumo 1 ml disposable injector を用いて, misonidazole 0.15 mg, 0.3 mg, 0.6 mg を注入し経過を観察した。各群 5 匹ずつのラットを使用し, 注入後 2 週間目に屠殺し, misonidazole 注入部の組織変化を検討した。

(c) misonidazole pellet の犬の頭蓋内留置

体重 10~13 kg の雌の成犬 3 匹を使用し, silastic medical-grade elastomer 0.5 g に, misonidazole 0.25 g を混合して作製した pellet を頭蓋内に留置して経過を観察した。2 匹の犬は右または左の前頭頂開頭を行ない, 硬膜, くも膜を切開し上記の pellet を各 1 個脳表に留置した。他の 1 匹の犬は前頭頂開頭を両側に行ない, 上記の pellet を左右に 1 個ずつ留置した。pellet 1 個を留置した犬のうち 1 匹は 7 日目に, 他の 1 匹は 37 日目に, pellet 2 個を留置した犬は 23 日目にそれぞれ屠殺し, pellet 留置部位の脳の組織変化を検討した。また misonidazole の脳組織内濃度を, 7 日目, 23 日目に屠殺した犬について測定し, 血清濃度, 髄液濃度を各犬の屠殺時に測定した。

(d) misonidazole の犬の脳内投与

体重 12 kg の雌の成犬 1 匹を使用し, 右前頭葉内に Pudenz の shunt tube を留置し, 皮下に留置した valve より misonidazole を 0.5~20 mg まで 3 日おきに注入し, 経過を観察し, 31 日目に屠殺して脳の組織

Table 3.

Cases	Age	Sex	Histology	Total dose of radiotherapy	Effect of radiotherapy on CT	Dose of misonidazole in pellet	Complications of misonidazole pellet
1	67	F	Metastasis (uterus ca)	5100 rad	stable	2 g	none
2	44	M	Glioblastoma	6000 rad	stable	1 g	none
3	44	F	Astrocytoma	4990 rad	stable	1 g	none

変化を検討した。

(2) 結果

マウスの頭蓋内に misonidazole を注入し経過を観察したが、痙攣、麻痺などは認められず、体重も無処置の正常マウスと同様の増加を示した。注入後1カ月目の脳組織標本では、脳実質には炎症反応をおもわせるような細胞浸潤や組織変性など異常所見は認められなかった。

ラットの大槽内に misonidazole を注入し経過を観察したが、痙攣、麻痺などは認められず、注入後2週間目の組織標本では、くも膜の肥厚など異常所見は認められなかった。

犬の頭蓋内に misonidazole pellet を留置し経過を観察したが、痙攣、麻痺などは認められず、また組織標本では pellet に接した脳実質に細胞浸潤や組織変性など異常所見は認められなかった。misonidazole の脳組織内濃度は、pellet 留置後7日目では $5.2 \mu\text{g/g}$ 、23日目では $3.0 \mu\text{g/g}$ であった。血清中、髄液中にはいずれの時期にも $1.0 \mu\text{g/ml}$ 以下で検出されなかった。

犬の皮下に留置した Pudenz の valve から右前頭葉内に tube を介して misonidazole を注入して経過を観察したが、痙攣、麻痺などは認められなかった。31日目に misonidazole 20 mg を注入後摘出した脳組織標本では、tube が存在していた付近の脳実質に、リンパ球、マクロファージなどの細胞浸潤が認められた。これは misonidazole に対する特異的なものではなく、tube 挿入による機械的損傷ならびに薬剤注入に伴う非特異的な反応と考えられた。

V. 脳腫瘍患者の放射線治療における misonidazole pellet 投与の試み

misonidazole pellet を脳腫瘍患者に応用した (Table 3)。第1例は、A. No. 10 silicone tube に misonidazole 純末 2 g を封入した pellet を、第2、3例は、silastic

medical-grade elastomer 2 g に misonidazole 1 g を混合した pellet を、腫瘍摘出腔内に留置し、術後に放射線治療を行なった。放射線治療前後での CT 上の放射線治療効果は、3例とも stable であった。観察期間は3〜7カ月と短く、従来の放射線療法への上乗せ効果、経口投与による misonidazole の効果との比較は困難であるが、現時点まで特に神経学的所見の悪化、CT 上腫瘍の再増殖は認められていない。また misonidazole pellet の留置に伴うと思われる副作用は認められていない。

VI. 考 察

脳腫瘍の治療の基本は、あくまでも手術による腫瘍の摘出である。しかしながら、腫瘍自体の性質上、あるいは腫瘍の局在部位などにより、根治手術が不可能な場合も少なくない。放射線療法は、このような手術によって完全に摘出できなかった場合の補助療法として、あるいは手術不可能な腫瘍に対する治療手段として、脳神経外科領域では大きな役割を果たしている。

悪性脳腫瘍の放射線治療を行なう上での大きな問題点の1つは、腫瘍内に存在する hypoxic cells が放射線抵抗性を示し³⁴⁾、腫瘍根治を妨げ再発の原因となるということである。この腫瘍内に存在する hypoxic cells の放射線治療効果を高めるため、これまでに高圧酸素療法¹⁰⁾、high LET 放射線である速中性子線の利用^{28, 35)}、hyperthermia^{16, 27)} など種々の試みがなされてきている。高圧酸素療法は、酸素が最も確実な放射線増感物質であることから、高圧酸素チェンバー内で腫瘍内の酸素分圧を高めて放射線照射を行なおうというものであるが、酸素は速やかに代謝を受けるため、腫瘍組織内で高い濃度を維持することが困難であり、十分な効果は得られていない。high LET 放射線である速中性子線は、oxygen enhancement ratio が低く、細胞の放射線損傷からの回復がX線よりも低いなどの利点

はあるが、正常組織に対する損傷が大きいという欠点がある。hyperthermia に関しては、local hyperthermia は現時点では技術的に困難であり、systemic hyperthermia では心血管系に対する影響を考慮せねばならず安全域が狭いなど、いろいろの問題がある。

一方、これらの試みと共に、機械装置を必要とせず、使用が簡便で侵襲が少ない放射線増感物質によって、放射線の生物学的効果を高めようとする試みがなされ、種々の放射線増感剤の研究が進められてきた^{9,11,13}。1963年、Adams ら²⁾が、hypoxic cells の放射線感受性は放射線増感剤の電子親和性に関係していることも示唆して以来、種々の electron affinic compounds の放射線増感作用が検討されてきた。PNAP (paranitroacetophenone)⁴⁾は、in vitro で hypoxic cells に対して放射線増感作用が認められた最初の electron affinic compound であるが、この物質は溶解度が悪いので、さらに溶解度の高い NDPP (4'-nitro-3-dimethylamino-propiophenone hydrochloride)¹³⁾が開発されたが、放射線増感効果を得るには中毒量に近い量を必要とした。その後、トリオ基を有する芳香族化合物の放射線増感作用が検討され、nitrofuran¹¹⁾の放射線増感作用が認められたが、この物質は代謝を受けやすく不安定であり十分な効果は得られなかった。続いて、他のニトロ化合物より毒性が弱く、代謝を受けにくい nitroimidazole 系の薬剤が開発された。Foster ら¹⁹⁾は、5-nitroimidazole である metronidazole の in vitro における hypoxic cells に対する放射線増感効果を報告し、Urtasun ら³⁶⁾は、臨床で metronidazole を glioblastoma の患者の放射線治療に併用し、その放射線増感効果について報告している。さらに Adams ら⁵⁾は、5-nitroimidazole よりも電子親和性の強い 2-nitroimidazole である misonidazole を合成し、in vitro で chinese hamster cell に対する放射線増感作用について報告した。

misonidazole は、oxic cells の放射線増感作用はなく、従って正常細胞を増感することなく、主に腫瘍内に存在する hypoxic cells に対して放射線増感作用を示す¹⁴⁾といわれている。しかも代謝を受けにくく安定で、血管から離れた hypoxic cells まで diffusion で十分到達しうると考えられ、また脳内への移行も良好で、腫瘍内にも十分分布する⁶⁾といわれている。放射線増感機構^{3,12,40)}に関しては不明の点が多いが、細胞内の標的分子 (DNA) が、放射線照射により電子がたたき出され分極化し、電子親和性の強い増感剤が電子をひきぬき、標的分子はカチオンとなり、水の電離に

よって生じた OH^- などのラジカルと反応して破壊されと考えられている。一方で misonidazole には放射線増感剤としての作用だけでなく、hypoxic cells に対して選択的に direct cytotoxicity をもつ²³⁾ことが示されている。すでに in vitro^{7,22)} および in vivo^{15,31)}の実験で、放射線増感効果が認められているが、本研究では、脳腫瘍に対する misonidazole の放射線増感効果を検討するため、まずマウスの頭蓋内移植腫瘍モデルを用いて、misonidazole を放射線治療に併用し、その放射線増感効果について検討した。本実験では、前述の如く、腫瘍移植後10日目に ^{60}Co 1000 rad 照射とともに misonidazole を投与したマウスの生存率において、放射線増感効果が認められ、さらに腫瘍が増大して necrosis の部分が多くなり、hypoxic cells の占める割合が大きくなっていると考えられる terminal stage にあるマウスの頭蓋内腫瘍では、前述した方法による in vivo assay において、著明な放射線増感効果が認められた。マウスの頭蓋内移植腫瘍に基づき、ヒトの脳腫瘍に対しても放射線増感効果が期待できるものと考え、臨床応用を行なった。

脳腫瘍患者に対する臨床応用は、従来の conventional fractionated radiotherapy、すなわち 1 回照射量 150 ~ 200 rad で週 5 回、総照射量 5000 ~ 6000 rad という照射法に、misonidazole を経口投与で、体表面積 1m^2 当り 1g で週 2 回、計 10 回、または体表面積 1m^2 当り 0.5g で、週 5 回、計 20 回のスケジュールで投与した場合と、従来の照射法を変更し、120 rad を週 4 回照射し、400 rad を週 1 回照射して 400 rad 照射時に misonidazole を体表面積 1m^2 当り 2g、計 5 回投与し、総線量を 5000 ~ 6000 rad とする方法とを行なった。いずれの投与方法でも、できるだけ副作用をきたさないように、総投与量は体表面積 1m^2 当り 10g を超えないようにした。misonidazole の効果判定に関しては、まだ症例も少なく、また steroid 投与、化学療法など他の治療を併用していることもあって、従来の放射線治療との比較における misonidazole の上乗せ効果、また上記の投与方法の違いによる効果の差も証明するに至っていない。副作用に関しては、悪心、嘔吐などの消化器症状が 27 例中 9 例 (33.3%) に認められ、個人差があるが、1 回投与量の多い患者に出現する傾向が認められた。peripheral neuropathy などの神経症状は、1 回投与量より全投与量に関係しているとの報告があるが³⁷⁾、今回の臨床応用では総投与量を $10\text{g}/\text{m}^2$ 以下におさえたためか、神経症状の発現をきたした症

例は認められなかった。misonidazole の副作用に関し、小野山ら²⁶⁾は、日本における misonidazole の phase I study の結果として、悪性腫瘍患者106例に関する報告を行なっているが、それによると悪心、嘔吐などの消化器症状は36.6%の症例で認められ、1回投与量が多いほど頻発する傾向が認められたとしている。また神経症状の発現は総投与量と相関し、10 g/m² 以下では5%以下であるのに対して、10 g/m² 以上では17%に達するとして、日本人においては、総投与量を10 g/m² 以下とし、1回投与量は、週1回で1.5 g/m²、週2回で1 g/m²、週5回で0.5 g/m² 以下におさえれば、重篤な副作用はほとんど発生しないと考えられると報告している。阿部ら¹⁾も全投与量10 g/m² 3週間、12 g/m² 6週間以下におさえるようにと勧告している。

悪性脳腫瘍患者に対しては、すでに多くの施設で、いろいろなスケジュールにより投与が試みられている。Walker ら³⁸⁾は、1回180~200 rad の照射を週5回、6~7週の放射線治療に、misonidazole 1回1.5 g/m²、週2回、6週間投与している。Wiltshire ら³⁹⁾は、294 rad を週2回、500 rad を週1回照射し、500 rad 照射時に misonidazole 3.0 g/m² を投与し、4週間で計12 g/m² を投与している。これらの投与方法の結果はまだ報告されていないが、今後どのような投与方法で放射線療法と組み合わせるとより効果があるのか、十分検討を加える必要がある。

すでに述べたように、経口投与では、副作用として嘔吐をきたすことが多く、投与量を増加できず、従って腫瘍局所の濃度を上昇させることが困難である。本研究では、副作用をきたすことなく、できるだけ misonidazole の腫瘍局所濃度を上昇させるため、silicone rubber, silicone tube を用いて、misonidazole pellet を作製し、misonidazole の腫瘍局所投与について検討した。

種々の薬剤を silicone rubber, silicone tube に封入して作製した pellet から、薬剤が持続的に放出されることは、すでに多くの報告^{18, 25, 29)}で確かめられている。また pellet 作製の際使用した silicone 製品は、他のシャントチューブやドレーンなどとともに体内に留置しても無害である³²⁾。本研究では、silastic medical-grade elastomer および silicone tube を用いて misonidazole pellet を作製し、これらの pellet から misonidazole が in vitro で生理食塩水中に約1カ月にわたり、持続的に放出されることが確認された。silicone rubber を用いて作製した pellet の方が、silicone tube を用い

て作製した pellet よりも放出量は多く、前者の方がより有用であると考えられた。misonidazole は現在常用されている経口投与量1 g/m² では、血清濃度は約30 µg/ml であり²⁷⁾、今回使用した silicone rubber を用いて作製した pellet からの生理食塩水中への放出量は、理論的には経口投与による血清濃度をはるかに超えるものと考えられた。in vivo の実験で、ラットの皮下腫瘍に留置した pellet から放出される misonidazole の腫瘍内濃度は、in vitro の実験から予想されるよりは低かったが、これは組織液などによる灌流希釈、濃度測定上の腫瘍組織標本のとり出し方の問題などによるのではないかと考えられた。低濃度とはいえ、4週間目にも misonidazole が pellet から持続的に放出していることが確認され、一方経口投与では、血中の misonidazole の半減期は約14時間であり²⁷⁾、しかも現時点での投与方法では、放射線療法中の全照射に必ずしも投与していないことを考えると、pellet を使用した場合、腫瘍は常に一定濃度の misonidazole にさらされていることになり、しかも misonidazole には hypoxic cells の放射線増感効果とともに、直接の細胞障害効果があるといわれているので²³⁾、pellet を使用した局所投与方法により、両方の効果が期待でき、より合理的であると考えられる。

脳腫瘍に対して misonidazole を局所投与する場合に問題となるのは、misonidazole の neurotoxicity である。経口投与で peripheral neuropathy をきたした症例の報告があり³⁷⁾、Saunders ら³⁰⁾は、経口投与で痙攣をきたした症例があったと報告している。これまで頭蓋内に直接 misonidazole を投与した報告はないが、マウスの頭蓋内、ラットの大槽内に misonidazole を注入して経過を観察したところ、この実験で投与した0.6 mg まででは痙攣、麻痺などをきたした例はなく、また体重減少をきたすこともなかった。また犬の頭蓋内に脳表に接して misonidazole pellet を留置して経過を観察したが、misonidazole 0.5 g を含む pellet を留置しても痙攣、麻痺などは認めず経過は良好であった。また犬の頭皮下に留置した pudenz の valve より tube を通して、右前頭葉内に misonidazole を0.5 mg より漸増して20 mg まで投与したが、やはり痙攣、麻痺などは認められず経過は良好であった。

misonidazole pellet の臨床投与例でも、pellet 留置によると思われる副作用をきたした症例は認められていない。まだ少数例であり、その治療効果について判定できる段階ではないが、今後症例を重ね、さらに

他の抗癌剤との併用、また腫瘍摘出腔内に設置した Ommaya's reservoir からの投与についても検討する予定である。

以上、脳腫瘍の放射線治療における misonidazole の放射線増感効果について述べたが、今後さらに強い抗腫瘍効果を得るために hyperthermia など他の治療法との併用^{8,33)}についても十分検討を要すると思われる。また misonidazole よりもさらに副作用が少なく、しかも放射線増感効果の大きい薬剤の開発⁹⁾など、脳腫瘍の放射線治療成績を向上させるべく努力が続けられなければならないと考える。

結 語

- 1) マウス頭蓋内移植腫瘍に対し、腫瘍移植後10日目および第3週目の terminal stage に、⁶⁰Co 1000 rad 1回照射に misonidazole を併用し放射線増感効果を認めた。
- 2) 臨床経口投与例では、総投与量が体表面積 1 m² 当り 10 g 以下では、副作用として27例中9例(33.3%)に悪心、嘔吐などの消化器症状が認められたが、peripheral neuropathy など他の副作用は認められなかった。
- 3) misonidazole の局所投与を目的として作製した pellet から、約1カ月にわたり生理食塩水中に misonidazole の持続的放出が認められ、またラットの皮下腫瘍に留置した pellet から4週間にわたり腫瘍内に misonidazole が放出されていることが確認された。
- 4) misonidazole の頭蓋内投与による毒性の検討として、マウスの頭蓋内、ラットの大槽内へ 0.6 mg 注入、犬の頭蓋内へ misonidazole 0.5 g を含む pellet の留置、犬の脳内へ 20 mg 注入を行なったが、いずれの場合も神経学的異常所見は認められず経過は良好であった。
- 5) 脳腫瘍患者3例に対して misonidazole 1 g または 2 g を含む pellet を、腫瘍摘出腔内に留置し放射線治療を行なったが、認むべき副作用はなく、3～7カ月の観察期間中の経過は良好である。
- 6) より強い抗腫瘍効果を得るためには、hyperthermia など他の治療法との併用、さらに、副作用が少なく、より放射線増感効果の強い薬剤の開発が必要である。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました半田豊教授に深甚なる感謝の意を表します。また終始御指導、御

鞭達いただきました山下純宏講師に衷心より感謝いたしますとともに、実験に関し御指導、御協力いただきました高知医学大学脳神経外科学教室織田祥史助教授、滋賀医科大学脳神経外科学教室須田金弥助手、京都大学放射線医学教室小野公二助手、同野原弘基氏、京都大学脳神経外科学教室魏秀復学兄に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Abe M, Sakamoto K, et al: Treatment of Radio-resistant Cancers. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.
- 2) Adams GE and Dewey DL: Hydrated electrons and radiobiological sensitization. *Biochem Biophys Res Commun* **12**: 473-477, 1963.
- 3) Adams GE and Cooke MS: Electron-affinic sensitization I. A structural basis for chemical radiosensitizers in bacteria. *Int J Rad Biol* **15**: 457-471, 1969.
- 4) Adams GE, Asquith JC, et al: Electron affinic sensitization part II, Paranitroacetophenone: A radiosensitizer for anoxic bacterial and mammalian cells. *Int J Radiat Biol* **19**: 575-585, 1971.
- 5) Adams GE, Flockhart IR, et al: Electron-affinic sensitization VII. A correlation between structures, one-electron reduction potentials and efficiencies of nitroimidazoles as hypoxic cell radiosensitizers. *Radiat Res* **67**: 9-20, 1976.
- 6) ASH DV, Smith MR, et al: Distribution of misonidazole in human tumors and normal tissues. *Br J Cancer* **39**: 503-509, 1979.
- 7) Asquith JC, Watts ME, et al: Electron affinic sensitization V. Radiosensitization of hypoxic bacteria and mammalian cells in vitro by some nitroimidazoles and nitropyrazoles. *Radiat Res* **60**: 108-118, 1974.
- 8) Bleehen NM, Honess DJ, et al: Interaction of hyperthermia and the hypoxic cell sensitizer Ro-07-0582 on the EMT6 mouse tumor. *Br J Cancer* **35**: 299-306, 1977.
- 9) Brown JM and Workman P: Partition coefficient as a guide to the development of radiosensitizers which are less toxic than misonidazole. *Radiat Res* **82**: 171-190, 1980.
- 10) Chang CH: Hyperbaric oxygen and radiation therapy in the management of glioblastoma. *Natl Cancer Inst Monogr* **46**: 163-169, 1977.
- 11) Chapman JD, Reuvers AP, et al: Effectiveness of nitrofurans derivatives in sensitizing hypoxic mammalian cells to X-rays. *Br J Radiol* **46**: 623-630, 1973.
- 12) Chapman JD, Reuvers AP, et al: Nitroheterocyclic drugs as selective radiosensitizers of hypoxic mammalian cells. *Cancer Chemother Rep* **58**: 559-570, 1974.

- 13) Denekamp J and Michael BD: Preferential sensitization of hypoxic cells to radiation in vivo. *Nature* **239**: 21-23, 1972.
- 14) Denekamp J, Michael BD, et al: Hypoxic cell radiosensitizers: Comparative tests of some electron affinic compounds using epidermal cell survival in vivo. *Radiat Res* **60**: 119-132, 1974.
- 15) Denekamp J and Harris SR: Tests of two electron-affinic radiosensitizers in vivo using regrowth of an experimental carcinoma. *Radiat Res* **61**: 191-203, 1975.
- 16) Dewey WC, Hopwood LE, et al: Cellular response to combination of hyperthermia and radiation. *Radiology* **123**: 463-474, 1977.
- 17) Dische S and Saunders MI: Clinical experience with misonidazole. *Br J Cancer* **37**: Suppl. III, 311-313, 1978.
- 18) Folkman J and Long DM: The use of silicone rubber as a carrier for prolonged drug therapy. *J Surg Res* **4**: 139-142, 1964.
- 19) Foster JL and Willson RL: Radiosensitization of anoxic cells by metronidazole. *Br J Radiol* **46**: 234-235, 1973.
- 20) Fowler JF, Sheldon PW, et al: Optimum fractionation of the C3H mouse mammary carcinoma using X-rays, the hypoxic cell radiosensitizer Ro-07-0582, or fast neutrons. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **1**: 579-592, 1976.
- 21) Gray AJ, Dische S, et al: Clinical testing of the radiosensitizer Ro-07-0582 I. Dose tolerance, serum and tumor concentration. *Clin Radiol* **27**: 151-157, 1976.
- 22) Hall EJ and Roizin-Towle L: Hypoxic sensitizers: Radiobiological studies at the cellular level. *Radiology* **117**: 453-457, 1975.
- 23) Hall EJ and Biaglow J: Ro-07-0582 as a radiosensitizer and cytotoxic agent. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2**: 521-530, 1977.
- 24) Kallman RF: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* **105**: 135-142, 1972.
- 25) 織田祥史, 内田泰夫, 他: 抗思剤局所投与の試み. *日癌治* **13**: 32-38, 1978.
- 26) 小野山靖人, 中島俊文, 他: Hypoxic cell sensitizer の臨床的応用. *癌の臨床* **27**: 1461-1466, 1981.
- 27) Paoletti P, Walker MD, et al: Multidisciplinary Aspects of Brain Tumor Therapy. Amsterdam, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1979.
- 28) Parker RG, Berry HC, et al: Fast neutron beam radiotherapy of glioblastoma multiforme. *Am J Roentgenol* **127**: 331-335, 1976.
- 29) Rosenblum ML, Bowie DL, et al: Diffusion in vitro and in vivo of 1-(2-Chloroethyl)-3-(trans-4-methylcyclohexyl)-1-nitrosourea from silicone rubber capsules, a potentially new mode of chemotherapy administration. *Cancer Res* **33**: 906-914, 1973.
- 30) Saunders MI, Dische S, et al: The neurotoxicity of misonidazole and its relationship to dose, half-life and concentration in the serum. *Br J Cancer* **37**: Suppl. III, 268-270, 1978.
- 31) Sheldon PW and Hill SA: Further investigation of the effects of the hypoxic cell radiosensitizer Ro-07-0582 on local control of a mouse tumor. *Br J Cancer* **36**: 198-205, 1977.
- 32) Speirs AC and Blocksma R: New implantable silicone rubbers. An experimental evaluation of tissue response. *Plast Reconstr Surg* **31**: 166-175, 1963.
- 33) Stone HB: Enhancement of local tumour control by misonidazole and hyperthermia. *Br J Cancer* **37**: Suppl. III, 178-183, 1978.
- 34) Thomlinson RH and Gray LH: The histological structure of some human lung cancers and possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer* **9**: 539-549, 1955.
- 35) 恒元 博: 粒子線治療の現状と将来. *癌と化学療法* **7**: 1753-1767, 1980.
- 36) Urtasun R, Band P, et al: Radiation and high-dose metronidazole in supra-tentorial glioblastoma. *N Engl J Med* **294**: 1364-1367, 1976.
- 37) Urtasun R, Chapman JD, et al: Peripheral neuropathy related to misonidazole: Incidence and pathology. *Br J Cancer* **37**: Suppl. III, 271-275, 1978.
- 38) Walker MD and Strike TA: A phase II evaluation of misonidazole in the treatment of malignant glioma. *Amer Soc Clin Oncol Abstracts* **20**: 433, 1979.
- 39) Wiltshire CR, Workman P, et al: Clinical studies with misonidazole. *Br J Cancer* **37**: Suppl. III, 286-289, 1978.
- 40) 吉井義一: Anoxic Sensitizer の作用機序. *癌の臨床* **24**: 918-922, 1978.